保幼激素合成的研究进展

刘 艳[1,2,#],胜振涛[2,#],蒋容静[2],黄 原[1],李 胜[2,*]

(1. 陕西师范大学生命科学学院,西安 710062;
2. 中国科学院上海生命科学研究院上海植物生理生态研究所,上海 200032)

摘要:保幼激素(juvenile hormone, JH)是通过甲羟戊酸途径合成的一类倍半萜化合物。以昆虫中普遍存在的 JH Ⅲ为例,从分子水平上概述了 JH 合成途径中的各种酶,并对其中的两个关键酶:羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶和保幼激素酸甲基转移酶作了详细介绍。还从家蚕基因组数据库(http://silkworm.genomics.org.cn)中推测出了 JH 合成途径中大部分酶的编码基因,初探了 JH 合成的调节机制,讨论了 JH 合成的研究趋势。

关键词:保幼激素;合成酶;神经肽;家蚕

中图分类号:Q966 **文献标识码**:A **文章编号**:0454-6296(2007)12-1285-08

Progress in juvenile hormone synthesis

LIU Yan[1,2,#], SHENG Zhen-Tao[2,#], JIANG Rong-Jing[2], HUANG Yuan[1], LI Sheng[2,*] (1. College of Biological Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China; 2. Institute of Plant Physiology and Ecology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China)

Abstract: Juvenile hormones (JHs) are a group of sesquterpenoids synthesized via the mevalonic acid pathway. This review summarized all enzymes involved in the JH synthesis pathway at the molecular level with the ubiquitous JH Ⅲ in insects as example. Furthermore, it introduced two key enzymes: 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase and juvenile hormone acid methyltransferase in detail. In addition, from the silkworm database (http://silkworm.genomics.org.cn), most genes encoding enzymes in the JH synthesis pathway were predicted. Finally, the regulatory meachism of JH synthesis was discussed and its research direction predicted.

Key words: Juvenile hormone; synthesis enzyme; neuropeptide; *Bombyx mori*

保幼激素(juvenile hormone, JH)是通过甲羟戊酸途径合成的一类倍半萜化合物。以昆虫中普遍存在的保幼激素Ⅲ(JH Ⅲ)为例,其合成途径可以概括为 5 大步骤:乙酰辅酶 A→甲羟戊酸→异戊烯醇焦磷酸(isopentenyl pyrophosphate, IPP)→法尼焦磷酸(farnesyl pyrophosphate, FPP)→法尼酸(farnesoic acid, FA)→JH Ⅲ(图 1)。JH 的合成途径与胆固醇及其衍生物(固醇类物质)的合成途径在法尼焦磷酸合成之前的所有步骤都完全一样(Goldstein and Brown, 1990)。昆虫因缺乏鲨烯合成酶和羊毛脂固醇合成酶,法尼焦磷酸合成之后,不能合成固醇类物质(Beenakers *et al*., 1985),而沿着一条独特的途径合成一类倍半萜化合物,即 JH(Schooley and Baker, 1985)。该文以 JH Ⅲ为例介绍了 JH 生物合成途径的最新研究进展并对相关研究方向作了展望。

1 JH Ⅲ碳骨架的生成

1.1 甲羟戊酸的生成

甲羟戊酸由 3 个酶分三步催化生成。乙酰辅酶 A(acetyl-CoA)是固醇类物质和 JH 的最初合成前体。乙酰乙酰辅酶 A 硫解酶(acetoacetyl-CoA thiolase)催化两个乙酰辅酶 A 分子生成乙酰乙酰辅酶 A(acetoacetyl-CoA);3-羟甲基戊二酰辅酶 A 合

基金项目:国家自然科学基金项目(30770271,30470221);百人计划择优支持;浦江人才计划(07pj14100);中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX-YW-N-009)

作者简介:刘艳,女,1983 年生,硕士研究生,主要从事昆虫生理生化研究,E-mail:yanl_snnu@126.com;胜振涛,男,1981 年生,博士,助理研究员,主要从事昆虫生理生化研究,E-mail:zhtsheng@sippe.ac.cn

\# 同等贡献 These authors contributed equally to this work

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail:shengli@sippe.ac.cn

收稿日期 Received:2007-07-17;接受日期 Accepted:2007-10-05

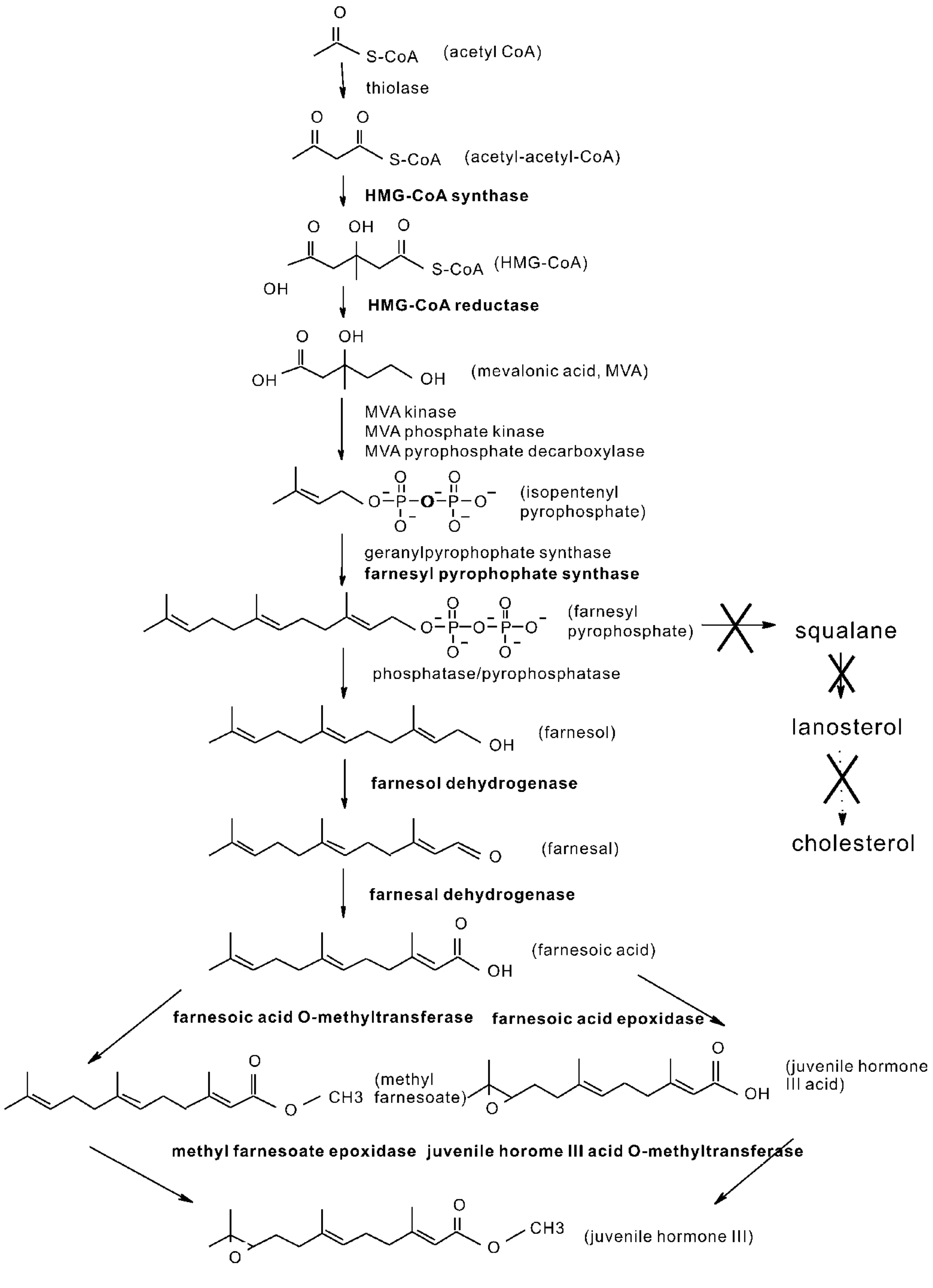

图1 JH Ⅲ的生物合成途径

Fig. 1 Biosynthesis pathway of juvenile hormone Ⅲ（JH Ⅲ）

成酶（3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA synthease，HMGS）催化乙酰乙酰辅酶A和乙酰辅酶A生成3-羟甲基戊二酰辅酶A（3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA，HMG-CoA）；3-羟甲基戊二酰辅酶A还原酶（HMG-CoA reductase，HMGR）催化HMG-CoA还原成甲羟戊酸（Schooley and Baker，1985）。在哺乳动物中，HMGR是甲羟戊酸合成途径中的关键酶（Goldstein and Brown，1990，1997）。

昆虫的乙酰乙酰辅酶A硫解酶研究得很少。Nanbu等（1993）从棕尾别麻蝇 *Sarcophaga peregrina* 发现的一具有硫解酶活性的39 kD蛋白质，可能是乙酰乙酰辅酶A硫解酶。

已从德国小蠊 *Blattella germanica*、耶氏松小蠹 *Dendroctonus jeffreyi* 和松小蠹 *Ips pini* 中克隆到了HMGS的cDNA。太平洋折翅蠊 *Diploptera punctata* 成虫咽侧体（corpora allata）中HMGS酶活力与JH合成呈明显的线性关系，但HMGS对JH合成却不起调控作用（Couillaud and Feyereisen，1991；Casals *et al*.，

2001）。

已从黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*、德国小蠊、松小蠹、加州五齿小蠹 *Ips paraconfusus*、耶氏松小蠹、球菜夜蛾 *Agrotis ipsilon*、棉铃象甲虫 *Anthonomus grandis*、埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 和蓖麻蚕 *Samia cynthia ricini* 等昆虫中克隆到 HMGR 的 cDNA。

大多数真核生物的 HMGR 为膜结合蛋白，N 端为膜结合区，脊椎动物 HMGR 的 N 端与胆固醇的调控有关；C 端为催化区；N 端和 C 端中间还有一短连接区（Bochar，1999）。美洲龙虾 *Homarus americanus* 大颚器中有两种 HMGR（膜结合和可溶性），它们分别行使不同的生理功能（Li *et al*.，2004）。在哺乳动物中，HMGR 是合成胆固醇的限速酶，酶活性受小分子物质（如甲羟戊酸和胆固醇）（Goldstein and Brown，1990，1997）和激素（如胰岛素和胰高血糖素）（Ness *et al*.，1994）的调控。或许因为昆虫自身不能合成胆固醇，胆固醇对黑腹果蝇（Brown *et al*.，1983）和美洲龙虾（Li *et al*.，2003）的 HMGR 活性没有抑制作用，但甲羟戊酸却能抑制 HMGR 活性。在太平洋折翅蠊成虫的 JH 合成周期中，与 HMGS 一样，咽侧体中 HMGR 活性与 JH 合成呈明显的线性关系（Couillaud and Feyereisen，1991），但 HMGR 对 JH 合成也没有调控作用。我们从蓖麻蚕咽侧体中克隆了 HMGR（*Samri*-HMGR）。定时实量 PCR 结果显示，在羽化前后的雌雄成虫的咽侧体中，虽然 *Samri*-HMGR 都持续高水平表达，但与 JH 合成不呈平行关系（胜振涛，2007）。综上所述，包括 HMGR 在内的整个甲羟戊酸途径都对 JH 合成没有显著的调控作用。

从家蚕 *Bombyx mori* 基因组数据库（http：//silkworm.genomics.org.cn）中推测出 Bmb021504、AV400509 和 Bmb000585 分别编码乙酰乙酰辅酶 A 硫解酶、HMGS 和 HMGR 基因。

1.2　异戊烯醇焦磷酸的合成

从甲羟戊酸到异戊烯醇焦磷酸，有 3 个酶分步催化完成。甲羟戊酸经过甲羟戊酸激酶（mevalonate kinase）和磷酸甲羟戊酸激酶（phosphomevalonate kinase）依次催化，两次磷酸化后生成焦磷酸甲羟戊酸（diphosphomevalonate）。焦磷酸甲羟戊酸经过焦磷酸甲羟戊酸脱羧酶（diphosphomevalonate decarboxylase）催化脱羧生成异戊烯醇焦磷酸（Belle's *et al*.，2005）。

已从埃及伊蚊的咽侧体 cDNA 文库中克隆了甲羟戊酸激酶和磷酸甲羟戊酸激酶的 cDNA，从太平洋折翅蠊的咽侧体 cDNA 文库中克隆到了甲羟戊酸激酶的 EST，从松小蠹中克隆到了焦磷酸甲羟戊酸脱羧酶的 EST。到目前为止，还没有任何关于昆虫甲羟戊酸激酶、磷酸甲羟戊酸激酶和焦磷酸甲羟戊酸脱羧酶的生理生化研究。

从家蚕基因组数据库中推测出 Bmb005129、Bmb011899 和 Bmb022030 分别编码甲羟戊酸激酶、磷酸甲羟戊酸激酶和焦磷酸甲羟戊酸脱羧酶基因。

1.3　法尼焦磷酸的合成

从异戊烯醇焦磷酸到法尼焦磷酸，有 3 个酶分步催化完成。异戊烯醇焦磷酸异构酶（IPP isomerase，IPI）催化异戊烯醇焦磷酸与二甲基丙烯基二磷酸（dimethylallyl diphosphate）之间的异构转变。牻牛儿焦磷酸合成酶（geranylpyrophosphate synthetase）是一个异戊烯基转移酶（prenyl transferase），催化异戊烯醇焦磷酸与二甲基丙烯基二磷酸合成牻牛儿焦磷酸（geranylpyrophosphate）。法尼焦磷酸合成酶（FPP synthetase，FPPS）也是异戊烯基转移酶，催化异戊烯醇焦磷酸和牻牛儿焦磷酸合成法尼焦磷酸。

在昆虫中，异戊烯醇焦磷酸异构酶的编码序列可以从黑腹果蝇、冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* 和家蚕（Bmb029997）的基因数据库中找到。松小蠹有一个代表异戊烯醇焦磷酸异构酶的 EST，埃及伊蚊的咽侧体 cDNA 文库中也有代表异戊烯醇焦磷酸异构酶的 EST。已经从许多昆虫中鉴定出来了异戊烯基转移酶，即法尼焦磷酸合成酶。包括球菜夜蛾 *A*. *ipsilon*、黑腹果蝇、冈比亚按蚊、家蚕和松小蠹。埃及伊蚊和太平洋折翅蠊的咽侧体 cDNA 文库中也有代表法尼焦磷酸合成酶的 EST。而牻牛儿焦磷酸合成酶存在于植物中，除了从松小蠹的 cDNA 文库鉴定到外，在其他动物中还没发现。所以，在动物中法尼焦磷酸合成酶很可能是个双功能的异戊烯基转移酶，可依次把异戊烯醇焦磷酸加到二甲基丙烯基焦磷酸和牻牛儿焦磷酸上（Noriega *et al*.，2006）。

从烟草天蛾 *Manduca sexta* 血淋巴中部分纯化到的法尼焦磷酸合成酶，分子量为 60.5 ± 3.5 kD，包含有两个 28.5 ± 0.5 kD 的亚基。与其他异戊烯基转移酶一样，催化时需要二价阳离子 Mn^{2+} 和 Mg^{2+}，但高浓度的 Mn^{2+} 对酶活性有抑制作用（Sen and Sperry，2002）。最近从两种鳞翅目昆虫中共克隆到了 3 个编码法尼焦磷酸合成酶的 cDNA（2 个来自云杉卷叶蛾 *Choristoneura fumiferana*，1 个来自一星粘虫 *Pseudaletia unipuncta*），氨基酸序列分析显示它们属

于两类法尼焦磷酸合成酶。结构分析显示，法尼焦磷酸合成酶 Ⅰ 有独特的基团置换活性，可能会催化生成不同的乙基置换法尼焦磷酸（ethyl-substituted FPP）。推测鳞翅目昆虫法尼焦磷酸合成酶独特的基团置换活性是导致鳞翅目昆虫产生多种 JH 的原因。定时实量 PCR 结果显示，法尼焦磷酸合成酶 Ⅰ 普遍表达于各组织中，而法尼焦磷酸合成酶 Ⅱ 则主要在咽侧体中表达，且远远高于法尼焦磷酸合成酶 Ⅰ 在咽侧体的表达（20 倍左右）。推测法尼焦磷酸合成酶 Ⅱ 在鳞翅目昆虫的 JH 合成中起更为主要的作用（Cusson *et al*.，2006）。

喂食松小蠹寄主松树的韧皮部，雄虫甲羟戊酸途径中早期步骤的酶（从乙酰乙酰辅酶 A 硫解酶到法尼焦磷酸合成酶）表达升高，同时中肠前部产生大量单萜类性信息素（Keeling *et al*.，2004）。在松小蠹的中肠内参与信息素合成的甲羟戊酸途径中的这些酶，包括法尼焦磷酸合成酶的表达也受 JH Ⅲ 调控（Gilg *et al*.，2005）。因为法尼焦磷酸合成酶是经典的甲羟戊酸途径在昆虫中的最后一步，很可能是调节昆虫甲羟戊酸途径的关键步骤。法尼焦磷酸还是合成不同类型的 JH 和其他化合物，如长醇、泛醌和异戊烯蛋白的重要前体（Belle's *et al*.，2005；Castillo-Gracia and Couillaud，1999）。

1.4 法尼酸的合成

法尼焦磷酸是经典甲羟戊酸途径（生成胆固醇和固醇类物质的甲羟戊酸途径）在昆虫咽侧体中的最后一个产物。所以从法尼焦磷酸直到 JH，参与催化的酶则为昆虫和甲壳动物独有，对它们的了解非常有限（Belle's *et al*.，2005）。从法尼焦磷酸到法尼酸，有 3 个酶分步催化完成。法尼焦磷酸焦磷酸酶（FPP pryophosphotase）催化法尼焦磷酸生成法尼醇（fanesol），关于法尼焦磷酸焦磷酸酶几乎没有任何结构方面的信息。最近，在冈比亚按蚊基因组中找到了异戊烯焦磷酸酶（prenyl-diphosphatase），但是否具有法尼焦磷酸焦磷酸酶的功能还不得而知（Noriega *et al*.，2006）。法尼醇被氧化成法尼醛（farnesal），然后氧化成法尼酸。这两步是由法尼醇脱氢酶或氧化酶（farnesol dehydrogenase or oxidase）和法尼醛脱氢酶（farnesal dehydrogenase）催化完成的。

早期在黑腹果蝇的研究中发现，环腺的咽侧体区域中含有辛醇脱氢酶（octanol dehydrogenase）和乙醛氧化酶（aldehyde oxidase）活性，可以分别氧化法尼醇和法尼醛（Madhavan *et al*.，1973）。烟草天蛾法尼醇的氧化由一个特殊的醇氧化酶催化完成，并且依赖于黄素和/或金属离子等辅因子（Sperry and Sen，2001）。从法尼醇到法尼醛，从法尼醛再到法尼酸的转变，也可能都是由依赖 NAD^+ 的脱氢酶来完成的（Baker *et al*.，1983）。在白足按蚊 *Anopheles albimanus*、埃及伊蚊和太平洋折翅蠊咽侧体的 cDNA 文库中都发现有短链脱氢酶的直系同源物，它们很可能是 NAD^+ 依赖性的催化法尼醛和法尼酸生成的脱氢酶（Noriega *et al*.，2006）。而且在黑腹果蝇、冈比亚按蚊和家蚕（Bmb013598，Bmb012610）的基因组数据库中存在直系同源物。

然而，昆虫中催化法尼焦磷酸到法尼醇，到法尼醛，再到法尼酸的这 3 个酶都有待从分子水平上进一步阐明。

2 JH Ⅲ 碳骨架合成后的步骤：甲基化和环氧化

通过对直翅目昆虫和网翅目昆虫的研究，人们早已对 JH Ⅲ 碳骨架合成后的其余步骤（甲基化和环氧化）有了详细的认识（Schooley and Baker，1985；Bhaskaran *et al*.，1988）。首先，在 S-腺苷甲硫氨酸（S-adenosyl-L-methionine，SAM）存在的情况下，法尼酸甲基转移酶（FA methyltransferase）转移甲基到法尼酸，生成甲基法尼酯（methyl farnesoate，MF；甲壳动物的 JH 样物质）。然后，在 O_2 存在的情况下，甲基法尼酯由甲基法尼酯环氧酶（MF epoxidase）环氧化生成 JH Ⅲ。不同的是，在鳞翅目昆虫中，法尼酸可先由法尼酸环氧酶（FA epoxidase）环氧化生成保幼激素酸（juvenile hormone acid，JHA），JHA 甲基转移酶（juvenile hormone acid methyl transferase，JHAMT）再转移甲基到 JHA 生成 JH。最近在烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* 中研究发现，JH Ⅲ 酸和甲基法尼酯都能作为合成 JH Ⅲ 的直接前体，也就是说在鳞翅目昆虫中，法尼酸的环氧化不一定在酯化之前（Teal and Proveaux，2006）。事实上，重组家蚕的 JHAMT 能够把甲基转移到 JHA 和法尼酸而生成 JH 和甲基法尼酯（Shinoda and Itoyama，2003）。

Shinoda 和 Itoyama（2003）从家蚕中克隆了第 1 个 JHAMT 基因，并从黑腹果蝇和冈比亚按蚊中找到了直系同源物。从四纹豆象 *Callosobruchus maculates*、意大利蜜蜂 *Apis mellifera*、埃及伊蚊和白足按蚊的 EST 库中，也发现了 JHAMT 的直系同源物（Belle's *et al*.，2005；Noriega *et al*.，2006）。我们从蓖麻蚕的咽侧体中克隆到了 *Samcri*-JHAMT（DQ465408）。*Samcri*-JHAMT 在咽侧体中特异性表

达，且与 JH 的合成有明显的相关性，可能是 JH 合成途径中受调控的一个关键酶（胜振涛，2007）。昆虫中的 JHAMT 包含有一个保守的 SAM 结合模块，属于 SAM 依赖的甲基转移酶家族。在大肠杆菌中表达的家蚕 JHAMT 有明显的酶活性，既能催化法尼酸生成甲基法尼酯，又能催化各种 JH 酸生成 JH（Shinoda and Itoyama，2003）。

从太平洋折翅蠊的咽侧体中鉴定出了一个特异的 JH 环氧酶 CYP15A1。它属于 P450 超家族蛋白质，大肠杆菌表达产物能使甲基法尼酯环氧化，对底物有区域和立体选择性。定时实量 PCR 结果显示，CYP15A1 基因在太平洋折翅蠊的咽侧体中特异性表达，并且是在咽侧体合成 JH 最多的时候表达量最高（Helvig *et al*.，2004）。从冈比亚按蚊的基因组中鉴定到了一个直系同源物，从家蚕和黑腹果蝇中的基因组中也找到了结构相关的序列 CYP305B1 和 CYP303A1。埃及伊蚊咽侧体的 cDNA 文库中有一 CYP15A1 直系同源物。

3　其他 JH 与 JH Ⅲ生物合成途径的异同

到目前为止，已从昆虫中鉴定了 6 种 JH。鳞翅目昆虫能够合成的就有 5 种，还有一种是直翅目昆虫中产生的 JHB3（6，7-环氧化 JH Ⅲ）。高等的双翅目昆虫中也产生 JHB3，可能是因为 JH 环氧化酶 CYP15A1 在进化过程获得了同时在 10，11- 和 6，7-环氧化的能力（Helvig *et al*.，2004）。而鳞翅目昆虫能够产生多种 JH，是由于在甲羟戊酸途径中，除了乙酰辅酶 A 外还有丙酰辅酶 A（propionyl-CoA）作为碳单位参与了碳骨架的合成（Schooley *et al*.，1973）。鳞翅目昆虫中，法尼焦磷酸是 JH Ⅲ的前体，其他 JH 则是由法尼焦磷酸的同源物生成的。法尼焦磷酸的同源物的生成，是由于同源二甲基丙烯基二磷酸（homodimethylallyl diphosphate）、同源异戊烯醇焦磷酸（homoisopententyl diphosphate）和（E）-3-methyl-3-pentenyl diphosphate 参与到倍半萜烯骨架的形成过程中（Koyama *et al*.，1987）。鳞翅目昆虫产生多种 JH，既与法尼焦磷酸合成酶的底物特异性有关（Cusson *et al*.，2006；Sen *et al*.，2006），又与法尼醇氧化酶（farnesol oxidase）的底物特异性调控或者同时存在多种法尼醇氧化酶有关（Sen *et al*.，2003）。

4　JH 生物合成的调节

与脊椎动物不同，昆虫甲羟戊酸途径的终产物不是胆固醇而是 JH，并且其甲羟戊酸途径也不受胆固醇的反馈抑制调控。研究表明，昆虫只有一个调控脂肪酸合成的固醇调节元件结合蛋白（sterol regulation element binding protein，SREBP）路径，而哺乳动物则有两个 SREBP 途径：调控脂类合成的 SREBP-1c 和调控胆固醇动态平衡相关基因的 SREBP-2（Rawson，2003；Belle's *et al*.，2005）。目前所有已知的后生动物的基因组序列中都有 SREBP：不能从头合成固醇的昆虫中只有 1 个 SREBP，而能够合成固醇的脊椎动物中却有 2 个 SREBP。因此，胆固醇合成及胆固醇对甲羟戊酸途径反馈抑制的 SREBP 途径，可能是进化过程中获得的（Rawson，2003）。有研究显示，昆虫甲羟戊酸途径的终产物 JH 可能调节调控甲羟戊酸途径。一些甲虫的甲羟戊酸途径参与了中肠的单萜类性外激素的合成。在雄虫的中肠前部（单萜类性外激素的合成部位），HMGS、HMGR 高水平表达，外源的 JH 能够提高 HMGS、HMGR 的表达水平。JH 可能协同调控甲羟戊酸途径中的酶活力而调控单萜类性外激素的合成（Seybold and Tittiger，2003；Belle's *et al*.，2005）。JH 能否调控甲羟戊酸途径中的其他酶进而反馈调节 JH 的合成，值得深入研究。

昆虫的营养和生殖影响 JH 的合成。烟草天蛾第 5 龄早期的幼虫断食后，JH 的合成速率维持在较高的水平达 3 天之久；而正常情况下，咽侧体合成 JH 的速率在最后一龄是迅速下降的（Lee and Horodyski，2006）。在幼虫中，JH 的主要功能是通过抑制成虫器官芽的发育而维持幼虫的形状；末龄幼虫 JH 的迅速下降和消失保证了成虫器官芽的正常发育（Truman *et al*.，2006）。在营养状况不良的情况下，埃及伊蚊成虫个体变小，蛋白、脂质和糖原含量明显偏低，用 JH 类似物处理后能够促使卵巢最大限度的发育。小成虫咽侧体合成 JH 的能力明显下降，喂糖或血后则能促进咽侧体的 JH 合成。这些结果显示，必须在营养储备足够的情况下，咽侧体才能产生足够多的 JH 引起卵巢发育成熟。至少在一部分昆虫成虫中，JH 的主要功能是促进成虫的生殖成熟（Caroci *et al*.，2004）。

还有研究揭示，胰岛素信号促进 JH 的合成。黑腹果蝇胰岛素信号通路被阻断后，成虫 JH 合成下降、个体变小、生殖发育减缓、寿命延长。胰岛素受体基因 *DIR* 突变体的杂合子为侏儒果蝇，雌虫卵巢的卵黄发生停滞。用 JH 类似物 methoprene 处理，能恢复卵黄发生（Tatar *et al*.，2001）。*DIR* 突变体或

胰岛素受体结合蛋白 *chico* 突变体的杂合子果蝇能延长 85% 的寿命（Tatar *et al*.，2001；Clancy *et al*.，2001）。有趣的是，体外培养 *DIR* 突变体的咽侧体，JH的合成速率明显低于野生型。用 JH 类似物 methoprene 处理长寿果蝇，能恢复到正常寿命（Tatar，2004）。JH 能促进许多昆虫的生殖成熟，打破滞育；而没有 JH 的情况下，成虫寿命会延长。基于这些联系，推测黑腹果蝇胰岛素对生殖和寿命的调控是由胰岛素通过促进 JH 的合成来完成的（Tatar，2004）。更有研究显示，生殖状况对 JH 的合成也有影响。交配后的烟草天蛾雌成虫 JH 的合成在前 4 天没有变化，但随后逐渐上升（Lee and Horodyski，2006）。总之，营养水平、胰岛素信号、生殖发育状态对 JH 的合成都有影响，但具体分子作用机制尚待深入研究。

促咽侧体素（allatotropin，AT）和抑咽侧素（allatostatin，AST）对咽侧体中的 JH 合成有调控作用，目前还没有阐明它们的作用机理，也不清楚它们调控 JH 合成路径中的哪些酶（Li *et al*.，2002；Sheng *et al*.，2007）。但有研究显示，离子通道及受体可能参与到咽侧体合成 JH 的调节过程中。Ca^{2+} 对调节咽侧体合成 JH 的活性十分重要（Rachinsky and Tobe，1996）。Ca^{2+} 载体 A23187 能够促进烟芽夜蛾咽侧体的活性，Ca^{2+} 螯合剂则能抑制 AT 对咽侧体合成 JH 的促进作用。说明 AT 促进咽侧体活性是通过提高细胞内 Ca^{2+} 浓度来实现的（Rachinsky *et al*.，2003）。AT 和 AST 是否通过这些受体及下游的信号通路来调节 JH 的合成，以及最终作用于 JH 合成途径中的哪个或哪些酶，都是值得研究的。

5 问题与展望

基于基因组序列优势，到目前为止，昆虫 JH 合成途径中的大部分酶已经被鉴定。但是对咽侧体中 JH 合成酶的表达研究不是很多，包括较早鉴定的 HMGS 和 HMGR。在昆虫的发育过程中，JH 合成途径中的酶在转录水平必定受到严密的调控。研究咽侧体中 JH 合成酶的表达变化，能够为 JH 合成酶的转录调控研究提供信息，找到 JH 合成途径中受调控的酶。在昆虫发育过程中，到底哪个或哪些酶是 JH 合成的调控酶，并且在哪个水平（转录、翻译、翻译后）上被调控，通过什么途径以及是否受神经肽的调节，是今后研究的发展趋势。另外，用转基因技术来敲除 JH 合成途径中昆虫特异性的酶，如 JHAMT，来研究 JH 的生理功能和分子作用机制也很有意义。现在已有研究表明，昆虫的营养水平、胰岛素信号、生殖发育状态、神经肽都对 JH 合成有影响。深入研究这些现象，必将会找到 JH 合成的调控机理。黑腹果蝇和家蚕的 JH 合成酶已基本全部被鉴定，它们作为模式生物（特别是果蝇）也都有成熟的转基因技术。再加上 RNA 干扰、DNA 芯片和蛋白质组技术的应用，在不远的将来，JH 合成途径的调控网络研究肯定会取得较大的进展。

参 考 文 献（References）

Baker FC，Mauchamp B，Tsai LW，Schooley DA，1983. Farnesol and farnesal dehydrogenase(s) in corpora allata of the tobacco hornworm moth，*Manduca sexta*. *J*. *Lipid Res*.，24：1 586 – 1 594.

Beenakers AMT，Vander Horst DJ，van Marrewijk WJ，1985. Insect lipids and lipoproteins，and their role in physiological processes. *Prog*. *Lipid Res*.，24：19 – 67.

Belle's X，Martin D，Piulachs MD，2005. The mevalonate pathway and the synthesis of juvenile hormone in insects. *Annu*. *Rev*. *Entomol*.，50：181 – 199.

Bhaskaran G，Sparagana SP，Dahm KH，Barrera P，Peck K，1988. Sexual dimorphism in juvenile hormone synthesis by corpora allata and in juvenile hormone acid methyltransferase activity in corpora allata and accessory sex glands of male Lepidoptera. *Int*. *J*. *Invert*. *Reprod*. *Dev*.，13：87 – 100.

Bochar DA，1999. Sequence comparison reveal two classes of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. *Mol*. *Genet*. *Metab*.，66：122 – 127.

Brown K，Havel CM，Watson IA，1983. Isoprene synthesis in isolated embryonic *Drosophila* cells Ⅱ. Regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity. *J*. *Biol*. *Chem*.，258：8 512 – 8 515.

Caroci AS，Li Y，Noriega FG，2004. Reduced juvenile hormone synthesis in mosquitoes with low teneral reserves reduces ovarian previtellogenic development in *Aedes aegypti*. *J*. *Exp*. *Biol*.，207：2 685 – 2 690.

Casals N，Buesa C，Marrero PF，Belles X，Hegardt F，2001. 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A synthase of *Blattera germanica* has structural and functional features of an active retrogene. *Insect Biochem*. *Mol*. *Biol*.，31：425 – 433.

Castillo-Gracia M，Couillaud F，1999. Molecular cloning and tissue expression of an insect farnesyl diphosphate synthase. *Eur*. *J*. *Biochem*.，262：365 – 370.

Clancy DJ，Gems D，Harshman LG，Oldham S，Stocker H，Hafen E，Leevers SJ，Partridge L，2001. Extension of life-span by loss of CHICO，a *Drosophila* insulin receptor substrate protein. *Science*，292：104 – 106.

Couillaud F，Feyereisen R，1991. Assay of HMG-CoA synthase in *Diploptera punctata* corpora allata. *Insect Biochem*.，21：131 – 135.

Cusson M，Beliveau C，Sen SE，Vandermoten S，Rutledge RG，Stewart D，Francis F，Haubruge E，Rehse P，Huggins DJ，Dowling AP，Grant

GH，2006. Characterization and tissue-specific expression of two lepidopteran farnesyl diphosphate synthase homologs：implications for the biosynthesis of ethyl-substituted juvenile hormones. *Proteins*，65：742－758.

Gilg AB，Bearfield JC，Tittiger C，Welch WH，Blomquist GJ，2005. Isolation and functional expression of an animal geranyl diphosphate synthase and its role in bark beetle pheromone biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*，102：9 760－9 765.

Goldstein JL，Brown MS，1990. Regulation of the mevalonate pathway. *Nature*，343：425－430.

Goldstein JL，Brown MS，1997. The low-density lipoprotein pathways and its relation to atherosclerosis. *Annu. Rev. Biochem.*，46：897－930.

Helvig C，Koener JF，Unnithan GC，Feyereisen R，2004. CYP15A1，the cytochrome P450 that catalyzes epoxidation of methyl farnesoate to juvenile hormone Ⅲ in cockroach corpora allata. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*，101：4 024－4 029.

Keeling CI，Blomquist GJ，Tittiger C，2004. Coordinated gene expression for pheromone biosynthesis in the pine engraver beetle，*Ips pini* (Coleoptera：Scolytidae). *Naturwissenschaften*，91：324－328.

Koyama T，Ogura K，Baker FC，Jamieson GC，Schooley DA，1987. Synthesis and absolute configuration of 4-methyl juvenile hormone Ⅰ (4-MeJH Ⅰ) by a biogenetic approach：a combination of enzymatic synthesis and biotransformation. *J. Am. Chem. Soc.*，109：2 853－2 854.

Lee KY，Horodyski FM，2006. Effects of starvation and mating on corpora allata activity and allatotropin (*Manse*-AT) gene expression in *Manduca sexta*. *Peptides*，27：567－574.

Li S，Jiang RJ，Cao MX，2002. Allatotropic and allaostatic activities in brain extracts of the Eri silkworm，*Samia cynthia ricini*，and the effects of *Manduca sexta* allatotropin and *Manduca sexta* allaostatin on juvenile hormone biosynthesis *in vitro*. *Physiol. Entomol.*，27：322－329.

Li S，Wagner CA，Friesen JA，Borst DW，2003. 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase in the lobster mandibular organ：regulation by the eyestalk. *Gen. Comp. Endocrinol.*，134：147－155.

Li S，Friesen JA，Fei H，Ding X，Borst DW，2004. The lobster mandibular organ produces soluble and membrane-bound forms of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase. *Biochem. J.*，381：831－840.

Madhavan K，Conscience-Egli M，Sieber F，Ursprung H，1973. Farnesol metabolism in *Drosophila melanogaster*：ontogeny and tissue distribution of octanol dehydrogenase and aldehyde oxidase. *J. Insect Physiol.*，19：235－241.

Nanbu R，Kubo T，Hashimoto T，Natori S，1993. Purification of an AU-rich RNA binding protein from *Sarcophaga peregrina* (flesh fly) and its identification as a thiolase. *J. Biochem.*，114：432－437.

Ness GC，Zhao Z，Wiggins L，1994. Insulin and glucagon modulate hepatic 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase by affecting immunoreactive protein levels. *J. Biol. Chem.*，269：19 168－19 172.

Noriega FG，Ribeiro JM，Koener JF，Valenzuela JG，Hernandez-Martínez S，Pham VM，Feyereisen R，2006. Comparative genomics of insect juvenile hormone biosynthesis. *Insect Biochem. Mol. Biol.*，36：366－374.

Rachinsky A，Tobe SS，1996. Role of second messengers in the regulation of juvenile hormone production in insects，with particular emphasis on calcium and phosphoinositide signaling. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*，33：259－282.

Rachinsky A，Srinivasan A，Ramaswamy SB，2003. Regulation of juvenile hormone biosynthesis in *Heliothis virescens* by *Manduca sexta* allatotropin. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*，54(3)：121－133.

Rawson RB，2003. The SREBP pathway－insights from Insigs and insects. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*，4：631－640.

Schooley DA，Judy KJ，Bergot BJ，Hall MS，Siddall JB，1973. Biosynthesis of the juvenile hormones of *Manduca sexta*：labeling pattern from mevalonate，propionate，and acetate. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*，70：2 921－2 925.

Schooley DA，Baker FC，1985. Juvenile hormone biosynthesis. In：Gilbert LI ed. Comprehensive Insect Physiology，Biochemistry and Pharmacology. Oxford：Pergamon. 7：363－389.

Sen SE，Sperry AE，2002. Partial purification of a farnesyl diphosphate synthase from whole-body *Manduca sexta*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*，32：889－899.

Sen SE，Sperry AE，Childress M，Hannemann DE，2003. Juvenile hormone biosynthesis in moths：synthesis and evaluation of farnesol homologs as alternate substrates of farnesol oxidase. *Insect Biochem. Mol. Biol.*，33：601－607.

Sen SE，Hitchcock JR，Jordan JL，Richard T，2006. Juvenile hormone biosynthesis in *M. sexta*：substrate specificity of insect prenyltransferase utilizing homologous diphosphate analogs. *Insect Biochem. Mol. Biol.*，36：827－834.

Seybold SJ，Tittiger C，2003. Biochemistry and molecular biology of de novo isoprenoid pheromone production in the Scolytidae. *Annu. Rev. Entomol.*，48：425－453.

Sheng Z，Ma L，Cao MX，Li S，Jiang RJ，2007. Biochemical and molecular characterization of allatotropin and allatostatin from the Eri silkworm，*Samia cynthia ricini*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*，37：90－96.

Sheng ZT，2007. Molecular and Enzymatic Mechanisms of the Pharate-Adult CA Reactivation in *Samia cynthia ricini*. PhD Thesis，Institute of Plant Physiology and Ecology，Shanghai Institutes for Biological Sciences，Chinese Academy of Sciences，Shanghai. [胜振涛，2007. 蓖麻蚕预成虫咽侧体复活的分子和酶学机理研究. 上海：中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所博士学位论文]

Shinoda T，Itoyama K，2003. Juvenile hormone acid methyltransferase：a key regulatory enzyme for insect metamorphosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*，100：11 986－11 991.

Sperry AE，Sen SE，2001. Farnesol oxidation in insects：evidence that the biosynthesis of insect juvenile hormone is mediated by a specific alcohol oxidase. *Insect Biochem. Mol. Biol.*，31：171－178.

Tatar M，Kopelman A，Epstein D，Tu MP，Yin CM，Garofalo RS，2001. A mutant *Drosophila* insulin receptor homolog that extends life-span and impairs neuroendocrine function. *Science*，292：107－110.

Tatar M，2004. The neuroendocrine regulation of *Drosophila* aging. *Exp. Gerontol.*，39：1 745－1 750.

Teal PE，Proveaux AT，2006. Identification of methyl farnesoate from *in*

vitro culture of the retrocerebral complex of adult females of the moth, *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) and its conversion to juvenile hormone Ⅲ. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 61: 98 – 105.

Truman JW, Hiruma K, Allee JP, Macwhinnie SG, Champlin DT, Riddiford LM, 2006. Juvenile hormone is required to couple imaginal disc formation with nutrition in insects. *Science*, 312: 1 385 – 1 388.

(责任编辑:黄玲巧)